

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM
GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

10/522341

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT
(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 0000053790	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/07877	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18.07.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 26.07.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/82		
Anmelder BASF PLANT SCIENCE GMBH, et al.		



- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 4 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 20.12.2003	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 05.07.2004
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Bilanz, J Tel. +49 89 2399-8707 

BEST AVAILABLE COPY

I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

Beschreibung, Seiten

1-91 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Ansprüche, Nr.

1-20 eingegangen am 20.12.2003 mit Schreiben vom 04.12.2003

Zeichnungen, Blätter

1/11-11/11 in der ursprünglich eingereichten Fassung

Sequenzprotokoll in der Beschreibung, Seiten:

1-90, , in der ursprünglich eingereichten Fassung.

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
- ☐ Ansprüche, Nr.:

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/07877

☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

☐ die gesamte internationale Anmeldung,

☒ Ansprüche Nr. 13-20

Begründung:

☐ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht *(genaue Angaben)*:

☐ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen *(machen Sie bitte nachstehend genaue Angaben)* oder die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte *(genaue Angaben)*:

☐ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.

☒ Für die obengenannten Ansprüche Nr. 13-20 wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)

Ja: Ansprüche 1-12

Nein: Ansprüche

Erfinderische Tätigkeit (IS)

Ja: Ansprüche 1-12

Nein: Ansprüche

Gewerbliche Anwendbarkeit (IA)

Ja: Ansprüche: 1-12

Nein: Ansprüche:

2. Unterlagen und Erklärungen:

siehe Beiblatt

1. Die mit Schreiben vom 04.12.2003 eingereichten geänderten Ansprüche sind formell zulässig.
Es wird jedoch darauf hingewiesen, dass der Internationale Recherchenbericht auf den ursprünglich eingereichten Ansprüchen beruht, da die Änderung der Ansprüche während der Recherche vom PCT nicht vorgesehen ist. Daraus folgt, dass für den Gegenstand der Ansprüche 13-20 keine Internationale Vorläufige Prüfung durchgeführt werden kann, da diese Ansprüche nicht recherchiert wurden.
2. D1 (Gleave et al.) offenbart die Transformation von Pflanzenzellen, welche zwei Markergene enthält (nptII und codA), mit einer T-DNA welche die Gene cre und hpt beinhaltet. In transformierten Zellen werden die nptII und codA Gene ausgeschnitten, sodass 5-fc verwendet werden kann, um transformierte Zellen zu selektionieren.

D2 (Corneille et al.) beschreibt ebenfalls die Eliminierung des codA Markergens durch Excision nach Transformation mit cre.

In D3 (Risseeuw et al.) wird eine Methode zur Transformation von Pflanzenzellen beschrieben, bei dem ein bereits vorhandenes Markergen (codA) durch ein anderes Markergen (Kanamycinresistenz) ersetzt wird.

Keines der Dokumente D1-D3 offenbart eine Methode zur Herstellung transformierter Pflanzen durch Transformation mit einer zu inserierenden Nukleinsäuresequenz in Kombination mit einer doppelsträngigen Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette.
3. Das Ziel der in D1 und D2 offenbarten Experimente war die Herstellung von transformierten Pflanzen ohne Markergene. Der Fachmann hätte daher keinen Grund gehabt, die in D1 oder D2 offenbarten genetischen Konstrukte so abzuändern, dass sie den in Anspruch 1 beschriebenen Konstrukten entsprechen (insbesondere die Einführung einer zu inserierenden Nukleinsäuresequenz zusätzlich zum Markergen). Dasselbe gilt für D3, welches die Studie der homologen Rekombination zum Ziel hat.
4. Der Gegenstand des Anspruchs 1 ist unklar.

Laut Anspruch 1 werden Pflanzenzellen, welche bereits ein Markerprotein enthalten, mit einer zu inserierenden Nukleinsäuresequenz und einer doppelsträngigen, für ein Markerprotein kodierende Ribonukleinsäuresequenz (oder einer Expressionskassette) transformiert.

Anspruch 1 verweist zweimal auf ein nicht näher charakterisiertes "Markerprotein". Es ist nicht klar, ob diese zwei Markerproteine identisch sind oder nicht.

Geänderte Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung transformierter pflanzlicher Zellen oder Organismen umfassend nachfolgende Schritte:
 - 5 a) Transformation einer Population pflanzlicher Zellen, wobei die Zellen besagter Population mindestens ein Markerprotein enthalten, das für besagte Population direkt oder indirekt einen toxischen Effekt bewirken kann, mit mindestens einer zu insertierenden Nukleinsäuresequenz in Kombination mit mindestens einer doppelsträngigen Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette oder Expressionskassetten befähigt zur Verminderung der Expression mindestens eines Markerproteins, und
 - 10 b) Selektion von transformierten pflanzlichen Zellen, die in ihrem Genom besagte Nukleinsäuresequenz aufweisen und die infolge der Wirkung besagter doppelsträngigen Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz gegenüber nicht-transformierten Zellen einen Wachstumsvorteil haben, aus besagter Population pflanzlicher Zellen, wobei die Selektion unter Bedingungen durchgeführt wird, bei denen das Markerprotein seinen toxischen Effekt auf die nicht-transformierten Zellen ausüben kann.
- 20 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Markerprotein in der Lage ist, eine für besagte Population pflanzlicher Zellen nicht-toxische Substanz X in eine für besagte Population toxische Substanz Y direkt oder indirekt umzusetzen, umfassend nachfolgende Schritte:
 - 25 a) Transformation der Population pflanzlicher Zellen mit mindestens einer zu insertierenden Nukleinsäuresequenz in Kombination mit mindestens einer doppelsträngigen Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette oder Expressionskassetten befähigt zur Verminderung der Expression mindestens eines Markerproteins, und
 - 30 b) Behandlung besagter Population pflanzlicher Zellen mit der Substanz X in einer Konzentration, die infolge der Umsetzung durch das Markerprotein einen für nicht-transformierte Zellen toxischen Effekt bedingt, und
 - 35 c) Selektion von transformierten pflanzlichen Zellen, die in ihrem Genom besagte Nukleinsäuresequenz aufweisen und die infolge der Wirkung besagter doppelsträngigen Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz gegenüber nicht-transformierten Zellen einen Wachstumsvorteil haben, aus besagter Population pflanzlicher Zellen, wobei die Selektion unter Bedingungen durchgeführt wird, bei denen das Markerprotein seinen toxischen Effekt auf die nicht-transformierten Zellen ausüben kann.
- 40 3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei es sich bei der nicht-toxischen Substanz X um eine Substanz handelt, die natürlicherweise in pflanzlichen Zellen oder Organismen nicht oder nur in Konzentration vorkommt, die im wesentlichen keinen toxischen Effekt bewirken können.
- 45

4. Verfahren nach Anspruch 2 oder 3, wobei es sich bei der Substanz X um eine Substanz handelt ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Pro-Herbiziden, Pro-Antibiotika, Nukleosidanaloga, 5-Fluorocytosin, Auxinamidverbindungen, Naphthalacetamid, Dihaloalkanen, Acyclovir, Ganciclovir, 1,2-Deoxy-2-fluoro-b-D-arabinofuranosil-5-iodouracil, 6-Thioxanthin, Allopurinol, 6-Methylpurindeoxyribonukleosid, 4-Aminopyrazolopyrimidin, 2-Amino-4-methoxybutansäure, 5-(Trifluoromethyl)thioribose und Allylalkohol.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Markerprotein ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Cytosindeaminasen, Cytochrom P-450 Enzymen, Indoleessigsäurehydrolasen, Haloalkandehalogenasen, Thymidinkinasen, Guaninphosphoribosyltransferasen, Hypoxanthinphosphoribosyltransferasen, Xanthinguaninphosphoribosyltransferasen, Purinnukleosidphosphorylasen, Phosphonatmonoesterhydrolasen, Indolacetamidsynthasen, Indolacetamidhydrolasen, Adeninphosphoribosyltransferasen, Methoxinindehydrogenasen, Rhizobitoxinsynthasen, 5-Methylthioribosekinasen und Alkoholdehydrogenasen.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Markerprotein kodiert wird durch
- a) eine Sequenz beschrieben durch die GenBank Accession-Nummer S56903, M32238, NC003308, AE009419, AB016260, NC002147 M26950, J02224, V00470, V00467, U10247, M13422, X00221, M60917, U44852, M61151, AF039169, AB025110, AF212863, AC079674, X77943, M12196, AF172282, X04049 oder AF253472
- b) eine Sequenz gemäß SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46 oder 48
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, wobei zusammen mit der zu insertierenden Nukleinsäuresequenz eine Sequenz kodierend für eine Resistenz gegen mindestens ein Toxin, Antibiotikum oder Herbizid eingebracht wird, und die Selektion zusätzlich unter Einsatz des Toxins, Antibiotikums oder Herbizids erfolgt.
8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, wobei die in das Genom der pflanzlichen Zelle oder des pflanzlichen Organismus zu insertierende Nukleinsäuresequenz mindestens eine Expressionskassette umfasst, wobei besagte Expressionskassette unter Kontrolle eines in pflanzlichen Zellen oder pflanzlichen Organismen funktionellen Promotors eine RNA und/oder ein Protein exprimieren kann, welche nicht die Verminderung der Expression, Menge, Aktivität und/oder Funktion eines Markerproteins bewirken.
9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, wobei die pflanzliche Zelle Teil eines pflanzlichen Organismus oder eines davon abgeleiteten Gewebes, Teils, Organs, Zellkultur oder Vermehrungsmaterials ist.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zur Herstellung transformierter pflanzlicher Zellen oder Organismen, umfassend nachfolgende Schritte:

- 5 a) Transformation einer Population pflanzlicher Zellen, welche mindestens ein nicht-endogenes (bevorzugt nicht-pflanzliches) Markerprotein umfasst, das in der Lage ist, eine für besagte Population pflanzlicher Zellen nicht-toxische Substanz X in eine für besagte Population toxische Substanz Y direkt oder indirekt umzusetzen, mit mindestens einer zu insertierenden Nukleinsäuresequenz in Kombination mit mindestens einer Nukleinsäuresequenz kodierend für eine doppelsträngige Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz oder einer deren Expression gewährleistenden Expressionskassette oder Expressionskassetten Ribonukleinsäuresequenz befähigt zur Verminderung der Expression, Menge, Aktivität und/oder Funktion besagten Markerproteins, und
- 10 b) Behandlung besagter Population pflanzlicher Zellen mit der Substanz X in einer Konzentration, die infolge der Umsetzung durch das Markerprotein einen für nicht-transformierte Zellen toxischen Effekt bedingt, und
- 15 c) Selektion von transformierten pflanzlichen Zellen (und/oder Populationen pflanzlicher Zellen wie pflanzlichen Geweben oder Pflanzen), die in ihrem Genom besagte Nukleinsäuresequenz aufweisen und die infolge der Wirkung besagter doppelsträngigen Markerprotein Ribonukleinsäuresequenz gegenüber nicht-transformierten Zellen einen Wachstumsvorteil haben, aus besagter Population pflanzlicher Zellen, wobei die Selektion unter Bedingungen durchgeführt wird, bei denen das Markerprotein seinen toxischen Effekt auf die nicht-transformierten Zellen ausüben kann, und
- 20 d) Regeneration von fertilen Pflanzen, und
- 25 e) Auskreuzung der für das Markerprotein kodierenden Nukleinsäuresequenz und Isolation von fertilen Pflanzen, die in ihrem Genom besagte Nukleinsäuresequenz aber nicht mehr die für das Markerprotein kodierende Sequenz aufweisen.
- 30 11. Aminosäuresequenzen kodieren für eine pflanzliche 5-Methylthioribosekinase, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Aminosäuresequenz mindestens eine Sequenz enthält ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 60, 62, 64, 66 oder 68.
- 35 12. Nukleinsäuresequenz kodieren für eine pflanzliche 5-Methylthioribosekinase, dadurch gekennzeichnet, dass besagte Nukleinsäuresequenz mindestens eine Sequenz enthält ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus SEQ ID NO: 59, 61, 63, 65 oder 67.
- 40 13. Doppelsträngiges RNA-Molekül umfassend
- a) einen "sense"-RNA-Strang umfassend mindestens eine Ribonukleotidsequenz, die im wesentlichen identisch ist zu mindestens einem Teil des "sense"-RNA-Transkriptes einer Nukleinsäuresequenz kodierend für ein Markerprotein, und
- 45 b) einen "antisense"-RNA-Strang, der zu dem RNA-sense-Strang unter a) im wesentlichen - bevorzugt vollständig - komplementären ist.

14. Doppelsträngiges RNA-Molekül nach Anspruch 13, wobei das Markerprotein wie in einem der Ansprüche 2 bis 6 definiert ist.
- 5 15. Doppelsträngiges RNA-Molekül nach einem der Ansprüche 13 oder 14, wobei "sense"-RNA-Strang und "antisense"-RNA-Strang kovalent in Form eines invertierten Repeats miteinander verbunden sind.
- 10 16. Transgene Expressionskassette enthaltend in funktioneller Verknüpfung mit einem in pflanzlichen Organismen funktionellen Promotor eine Nukleinsäuresequenz kodierend für ein doppelsträngiges RNA-Molekül gemäß einem der Ansprüche 13 bis 15.
- 15 17. Transgener Vektor enthaltend eine transgene Expressionskassette gemäß Anspruch 16.
18. Transgener pflanzlicher Organismus enthaltend ein doppelsträngiges RNA-Molekül gemäß einem der Ansprüche 13 bis 15, eine transgene Expressionskassette gemäß Anspruch 16 oder einen transgenen Vektor gemäß Anspruch 17.
- 20 19. Transgener pflanzlicher Organismus nach Anspruch 18, ausgewählt aus der Gruppe der Pflanzen bestehend aus Weizen, Hafer, Hirse, Gerste, Roggen, Mais, Reis, Buchweizen, Sorghum, Triticale, Dinkel, Leinsamen, Zuckerrohr, Raps, Kresse, Arabidopsis, Kohlarten, Soja, Alfalfa, Erbse, Bohnengewächsen, Erdnuss, Kartoffel, Tabak, Tomate, Aubergine, Paprika, Sonnenblume, Tagetes, Salat, Calendula, Melone, Kürbis und Zucchini.
- 25 20. Gewebe, Organ, Teil, Zelle, Zellkultur oder Vermehrungsgut abgeleitet von einem transgenen pflanzlichen Organismus gemäß einem der Ansprüche 18 oder 19.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.